云 南 植 物 研 究 2003，25（4）：465～479
Acta Botanica Yunnanica

种子的脱水行为及其分子机制*

宋松泉[1]，龙春林[2]，殷寿华[1]，兰芹英[1]
（1 中国科学院西双版纳热带植物园，云南 勐腊勐仑 666303；
2 中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204）

摘要：成熟脱水是种子发育的末端事件。根据种子的脱水行为，可以把种子分为正常性、顽拗性和中间性种子。许多过程或者机制授予或者提高种子的脱水耐性，不同的过程可能在不同的水合水平上对水分丧失起保护作用，这些过程的缺乏或者无效表达可能决定个别物种的种子的脱水敏感性程度。到目前为止，涉及种子脱水耐性的过程或者机制有：细胞内脱分化；代谢的‘关闭’；抗氧化系统的存在和有效运转；保护性分子（包括胚胎发育后期高丰度表达蛋白，蔗糖、寡糖或者半乳糖苷环多醇，亲水脂分子，油素）的存在；以及在重新水合过程中修复机制的存在和运转。

关键词：脱水耐性；脱水敏感性；正常性种子；顽拗性种子；中间性种子；脱水耐性的分子机制
中图分类号：Q 945　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253－2700（2003）04－0465－15

Desiccation Behavior of Seeds and Their Molecular Mechanisms

SONG Song-Quan[1]，LONG Chun-Lin[2]，YIN Shou-Hua[1]，LAN Qin-Ying[1]
（1 *Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*，*Chinese Academy of Sciences*，*Menglun*，Mengla 666303，China；
2 *Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China）

Abstract：Maturation drying is a terminal event of seed development. Seeds can be categorized into orthodox，recalcitrant and intermediate seeds depending on their storage behaviour. A number of processes or mechanisms have been suggested to confer，or contribute to，desiccation tolerance of seeds. Different processes may confer protection against the consequences of loss of water at different hydration levels，and the absence or ineffective expression of one or more of these could determine the relative degree of desiccation sensitivity of seeds of individual species. The processes or mechanisms that have been implicated in desiccation tolerance of seeds to date are：intracellular de-differentiation；metabolic‘switching off’；presence and efficient operation of antioxidant systems；accumulation of putatively protective molecules including late embryogenic abundant proteins，sucrose and certain oligosaccharides or galactosyl，amphipathic molecules，as well as oleosins；and the presence and operation of repair systems during rehydration of seeds.

Key words：Desiccation tolerance；Desiccation sensitivity；Orthodox seeds；Recalcitrant seeds；Intermediate seeds；Molecular mechanisms of desiccation tolerance

* 基金项目：中国科学院知识创新工程重要方向性项目（KSCX2－SW－117），中国科学院“百人计划”和国际植物遗传资源研究所（00/076）资助项目
收稿日期：2002－05－15，2003－04－07 接受发表
作者简介：宋松泉（1957－）男，理学博士，研究员，主要从事种子生物学和植物逆境生理学的教学和研究。

成熟脱水是种子发育的末端事件，是种子在贮藏或者环境胁迫中存活、保证物种繁衍的适应性策略。Roberts（1973）根据种子的贮藏行为将种子分为正常性种子（orthodox seed）和顽拗性种子（recalcitrant seed）。正常性种子在母株上经历成熟脱水，种子脱落时含水量较低，通常能被进一步干燥到1%～5%的含水量而不发生伤害；以及根据贮藏温度和种子含水量能够预测其寿命。顽拗性种子不经历成熟脱水，种子脱落时含水量相对较高，在整个发育过程中不耐脱水，通常对低温敏感；在适合正常性种子贮藏的条件下，其贮藏寿命通常只有几天到几个星期（Smith and Berjak，1995；Pammenter and Berjak，1999）。Ellis等（1990a）定义了第3种类型的种子，它们表现出中间性贮藏行为（intermediate storage behavior），在相对低的含水量下能够存活，但不能忍受象正常性种子一样的水分丧失。如果是热带起源，即使在脱水状态下也可能对低温敏感（Ellis等，1990a；Hong and Ellis，1996）。Farrant等（1988）根据种子对脱水敏感性的差异，提出了种子顽拗性连续群（continuum of seed recalcitrance）的概念，他们将顽拗性种子分为高度、中度和低度顽拗性3种类型。高度顽拗性种子通常是热带湿地分布，ABA含量较低，缺乏类脱水素蛋白（dehydrin-like protein）；中度顽拗性种子为热带和亚热带分布，低度顽拗性种子为亚热带和温带分布；中度和低度顽拗性种子都具有较高的脱落酸（ABA）含量和类脱水素的合成（Kermode，1997，Pammenter and Berjak 1999）。本文主要综述种子的脱水行为及其相关的分子机制的研究进展。

1 种子的脱水耐性

1.1 种子脱水耐性的获得

种子脱水耐性的相对水平随发育过程而变化，当种子成熟时胚的脱水耐性增加，当种子萌发时胚又变为不耐脱水（Kermode，1997；Pammenter and Berjak，1999）。脱水耐性的获得通常比自然干燥事件本身要早的多，一些物种的种子甚至在发育中期以前就能忍受脱水（Bewley and Black，1994；Kermode，1995）。例如发育的蓖麻籽（*Ricinus communis*），直到授粉后大约50～55 d，从果实分离的种子才能萌发。如果离体的种子先被干燥然后再萌发，在授粉后25～30 d就能获得萌发能力；但在授粉后20 d分离的种子不能萌发，也不能存活，因为它们还没有达到发育的脱水耐性阶段。似乎脱水耐性是在发育期间（从授粉后20～25 d）的5 d内获得，在其他物种〔例如菜豆（*Phaseolus vulgaris*）、欧白芥属（*Sinapis* L.）和油菜（*Brassica campestris*）〕的发育种子中也观察到类似的结果（Bewley and Black，1994；Tompsett and Pritchard，1993）。

但是，在蓖麻籽的发育早期，如果种子被缓慢干燥，种子在脱水时只能存活几天；而在发育后期能获得迅速脱水的耐性（Kermode and Bewley，1985）。因此，种子在发育过程中不断获得脱水耐性（Bewley and Black，1994；Kermode，1995），这可能是当发育进行时逐渐发生的生理和形态变化的结果，其中包括后期阶段专一性保护物质的合成（Kermode，1995，1997）。在蓖麻籽和大豆（*Glycine max*）中还观察到，当种子成熟时它们不仅更耐脱水，而且当重新水合时，形成正常幼苗的能力增强（Bewley and Black，1994）。

大多数正常性种子只有在它们已经达到或接近完成贮藏物积累时，或者在自然脱水开始时，或者刚刚在自然脱水开始后才能获得正常的萌发后生长（Kermode，1997）。例如，

发育的苜蓿（*Medicago sativa*）种子直到发育后期当种子正在经历成熟脱水时从果实中分离才能萌发。但离体胚放在潮湿的滤纸上或者营养培养基上则能萌发，说明成熟脱水对于萌发能力的获得不是一个必须经历的过程（Bewley and Black，1994）。**较幼嫩的胚比较成熟的胚萌发所花的时间较长，幼胚的存活较成熟的胚更依赖于培养基的营养；这可能是因为发育早期的胚缺乏足够的营养来支持它们发育到萌发状态，也缺乏营养和贮藏物质来支持萌发和萌发后生长**（Bewley and Black，1994）。

1.2 种子的水分状态与脱水耐性

根据水分吸收等温线（water sorption isotherm）**和量热法**（calorimetry）**的研究，顽拗性和正常性种子组织中的水分可以分为** 5 **种水分状态**（water state）**或水合水平**（hydration lever）（Vertucci and Farrant，1995；Walters **等**，2002；**图** 1）。

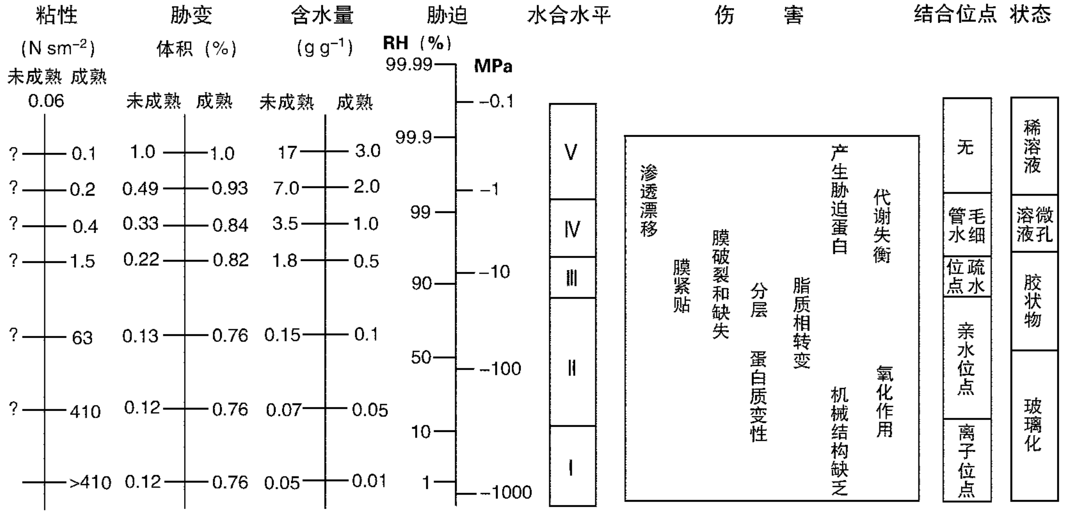

图 1 **水分胁迫（水势和相对湿度）、水分丧失（含水量）和胁变（体积和粘性变化）与水分概念模型以及对细胞伤害的关系（引自** Walters *et al*.，2002）。

Fig. 1 Scales of water stress (water potential and relative humidity [RH]), water loss (water content) and strain (volume and viscosity changes) as they relate to conceptual models of hydration and projected damage to cells (From Walters *et al*., 2002).

在水合水平 5（**水势超过** -1.5 **兆帕**［MPa］，**含水量为** 0.7 g/g（H_2O/g **干重**［DW］，**下同），组织中的水表现出类似于稀溶液的热力学性质；种子的组织被充分水合，细胞分裂和萌发代谢继续进行**（Berjak and Pammenter，1997；Vertucci and Farrant，1995）。**在水合水平** 4（**水势为** -1.5～-3 MPa，**含水量为** 0.70～0.45 g/g），**组织中的水表现为浓溶液或者微孔溶液**（pore solution）**的性质；大多数成熟的种子不发生伤害，可以进行蛋白质合成和核酸修复，但细胞分裂和种子萌发被阻止；未成熟的胚、幼苗和高度顽拗性种子如海榄雌**（*Avicennia marina*）**种子将死亡**（Berjak and Pammenter，1997；Vertucci and Farrant，1995）。**水合水平** 3（**水势为** -3～-11 MPa，**含水量为** 0.45～0.25 g/g），**水分在疏水位点形成桥，在** -18℃～-38℃**之间结冰；脂质双分子层开始相转变，呼吸活性继续，细胞利用高能中间代谢物的过程被损伤和积累毒素如自由基，在此水合水平所有的顽拗性种子将死亡。在水**

合水平 2（水势为 – 11 ~ – 150 MPa，含水量为 0.25 ~ 0.08 g/g），水获得形成玻璃化的能力，与大分子表面的相互作用较弱，结合能约为 – 2 kJ/mol；此时，中间性种子迅速死亡。水合水平 1（水势 < – 150 MPa，含水量 < 0.08 g/g），水分子通过离子键与大分子表面非常牢固地结合，水分子是作为配体而不是溶剂，结合能约为 – 50 kJ/mol；在此水合水平，正常性种子发生劣变，缓慢死亡（Berjak and Pammenter，1997；Vertucci and Farrant，1995）。

1.3 种子发育阶段与脱水耐性

随着发育过程的进行，种子的脱水耐性增加（Bewley and Black，1994；Kermode，1995）。然而，只有正常性种子能够获得充分的脱水耐性，顽拗性种子在整个发育过程中对脱水非常敏感（Pammenter and Berjak，1999；Smith and Berjak，1995）。Galau 等（1991）根据分子标记的结果，把组织分化后的胚胎发生分为 5 个阶段：（1）成熟；（2）维管分离后（postvascular separation，简称 PVS，是指母株和胚之间的维管联系分离后）；（3）预脱水；（4）脱水；（5）静止。Galau 等（1991）认为种子的脱水耐性是在 PVS 阶段获得。

成熟前收获对种子活力和生活力影响的研究表明，只有当成功地完成胚胎发生的最初 3 个阶段和迅速完成第 4 个阶段，种子才能获得最大的脱水耐性。尽管种子的脱水耐性在成熟过程中被连续地获得，一些正常性种子只有在最大干物质积累后的一些时间才能获得最大的活力和寿命（Vertucci and Farrant，1995）。顽拗性种子是一种不经过 PVS 阶段的产物（种子在脱离母株后向萌发过程进行）（Farrant 等，1993），或是一种发育的早期中断事件（Finch-Savage，1992）。因此，Vertucci and Farrant（1995）提出，不能获得最大脱水耐性的胚缺乏在阶段 1 到阶段 3 中发生的事件，或者在完成这些阶段前脱落，并开始萌发。

1.4 不同种子类型的最大脱水耐性

不同的种子类型其脱水耐性不同。一些顽拗性种子〔如茶（*Camellia sinensis*）、可可（*Theobroma cacao*）、荔枝（*Litchi chinensis*）、英国栎（*Quercus robur*）、欧洲七叶树（*Aesculus hippocastanum*）等〕存活的最低含水量大约为 0.2 ~ 0.3 g/g，其水势相当于 – 11 MPa。一些热带区域特有的顽拗性种子〔如海榄雌，亨氏罗汉松（*Podocarpus henkelii*），澳大利亚栗籽豆（*Castanospermum australe*）〕的成熟胚，其存活的临界含水量大约为 0.6 ~ 0.8 g/g，利用从其他胚组织得到的等温线估计其水势为 – 1.5 ~ 2.5 MPa（reviewed by Vertucci and Farrant，1995）。

不能忍受低含水量和低温协同效应的中间性贮藏行为的种子〔如番木瓜（*Carica papaya*，Ellis 等，1991）、油椰（*Elaeis guineensis*，Ellis 等，1990b）和窄叶菰（*Zizania palustris*，Kovach and Bradford，1992）〕，当贮藏在含水量低于 – 150 MPa 时就迅速丧失生活力；而正常性种子在含水量低于 – 150 MPa 时缓慢丧失生活力（即老化）（Vertucci and Roos，1993）。中间性贮藏行为的种子具有较高的脱水耐性可能是因为它们完成了 PVS 阶段，但缺乏预脱水阶段（Vertucci and Farrant，1995）。

2 种子脱水耐性的机制

已经提出许多过程或者机制授予或者提高种子的脱水耐性，不同的过程可能在不同的水合水平对水分丧失起保护作用，这些过程的缺乏或者无效表达可能决定个别物种的种子脱水敏感性程度（Pammenter and Berjak，1999；Berjak and Pammenter，2001；Kermode and

Finch-Savage，2002；Phillips 等，2002）。到目前为止，涉及种子脱水耐性的过程或者机制主要有：（1）细胞内脱分化；（2）代谢的“关闭（‘switching off’of metabolism）”；（3）抗氧化系统的存在和有效运转；（4）保护性分子〔包括胚胎发育后期高丰度表达蛋白（late embryogenic abundant（LEA）proteins），蔗糖、寡糖或者半乳糖苷环多醇（galactosyl cyclitol），一些亲水脂分子（amphipathic moleculs），脂质体周围的油素层（oleosin layer around lipid bodies）〕的存在；以及（5）在重新水合过程中修复机制的存在和运转（图 2）。

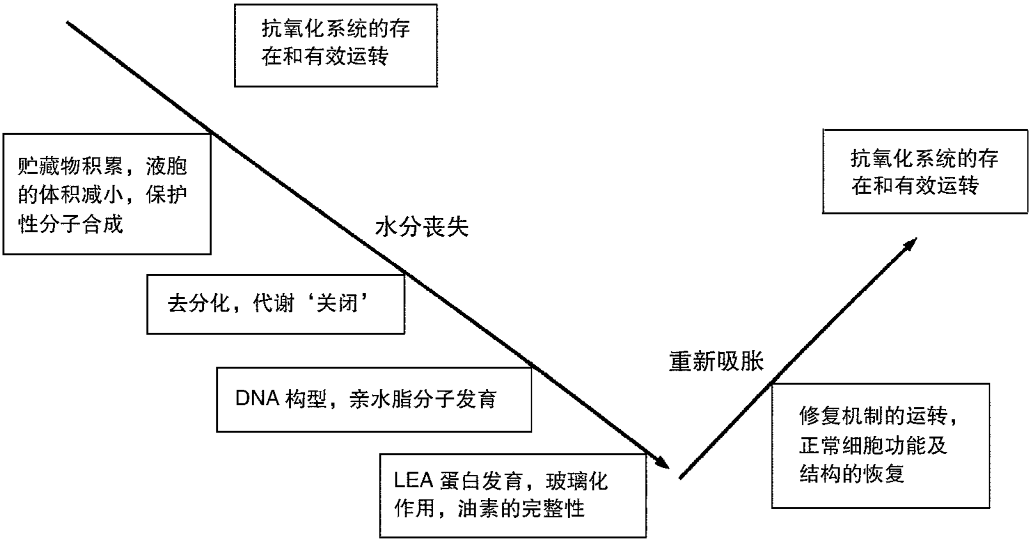

图 2 正常性种子脱水和随后的重新水合过程中假定产生的主要机制和过程的图解（引自 Pammenter and Berjak，1999）。

Fig. 2 Schematic representation of the sequence in which the major mechanisms and processes discussed are envisaged to be entrained during drying and subsequent rehydration of orthodox seeds（Pammenter and Berjak，1999）.

2.1 细胞内脱分化

正常性种子成熟干燥开始时，细胞内结构脱分化；而在萌发过程的早期，伴随着水分吸收再分化（Pammenter and Berjak，1999；Kermode and Finch-Savage，2002）。Farrant 等（1997）测定了顽拗性种子海榄雌和欧洲七叶树以及正常性种子菜豆发育过程中线粒体的数量和质量状态。种子成熟时（海榄雌和欧洲七叶树种子脱落前，菜豆种子成熟脱水前），由线粒体所占的细胞体积比例在海榄雌中最高，欧洲七叶树次之，菜豆中最低。此外，海榄雌和欧洲七叶树种子的线粒体具有发育良好的嵴和稠密的基质，为典型的具有活性的水合植物组织的结构；而成熟的菜豆种子的线粒体几乎完全脱分化。菜豆种子成熟时的组织含水量仍然较高，暗示许多质量和数量变化实际上在水分丧失之前已经发生，而不是作为水分丧失的结果（Farrant 等，1997）。

在一些复苏植物（resurrection plant）例如 *Xerophyta* spp. 的脱水过程中，细胞器也发生脱分化。Sherwin and Farrant（1996）和 Tuba 等（1996）已分别证明了 *X. viscosa* 和 *X. scabrida* 叶绿体脱分化的现象。在重新水合时，这两种植物具有不同的叶绿素含量，表现出缓慢的恢复速率，以及光合作用机构被重新组装。

2.2 代谢作用的“关闭”

已经报道脱水的正常性种子具有低水平的电子传递活性；在含水量高于 0.25 g/g 时，可检测到线粒体的呼吸作用，且呼吸速率随含水量的增加而提高（Vertucci，1989，1993）。然而，在中间含水量（intermediate water content）时发生的代谢作用是不受控制的；有证据表明在中间含水量范围发生的伤害反应可能是自由基介导的（Finch-Savage 等，1994；Vertucci and Farrant，1995）。中间含水量范围最初被认为相应于由 Vertucci（1990）定义的类型 3 水分状态，相当于 −11 ~ −3 MPa 的水势（Vertucci and Farrant，1995）。Pammenter and Berjak（1999）认为中间含水量应包括类型 4 水分状态，相当于直到 −1.5 MPa 的水势，因为当根原基的水势为 −1.5 MPa 时，贮藏的海榄雌水合种子丧失生活力（Motete 等，1997）。尽管在中间含水量时可能有自由基介导的氧化伤害，但成熟脱水是一种生物学上的成功策略。因此，具脱水耐性的种子必须能够通过易受损伤的含水量范围而伤害最小。代谢‘关闭’是一个减少与脱水有关的潜在有害效应的机制，结果类似于耐旱的复苏植物（Farrant and Sherwin，1998）。

在发育的豌豆（*Pisum sativum*）种子中，在呼吸速率下降之前，糖含量显著减少；这可能是允许正常性种子忍受成熟脱水的必需事件（Rogerson and Matthews，1977）。Farrant 等（1997）也观察到类似的结果，菜豆种子呼吸速率的下降与成熟脱水前大量的线粒体脱分化有关。细胞器脱分化的策略不仅减少了易受伤害的膜结构的表面积，而且与呼吸底物的下降一致；在水分胁迫的条件下将大大降低导致不受控制的自由基产生的代谢伤害（Senaratna and McKersie，1986）。

在发生自由基介导的伤害过程的含水量范围，顽拗性种子可能发生致死伤害的现象表明，脱水敏感性种子不具有或者不表达正常性种子通过这种含水量时而少受或者不受伤害的机制。成熟的顽拗性种子的呼吸速率相对较高（Lin and Chen，1995；Chien and Lin，1997；Farrant 等，1997；Côme and Corbineau，1996），表明这些种子具有较高的代谢活性可能与脱水敏感性有关（reviewed by Berjak and Pammenter，2001）。

在水合组织中，细胞周期是代谢活性的另一个特征。在正常性蚕豆（*Vicia faba*）种子的成熟干燥过程中，大多数细胞被停留在 G_1 期；当胚细胞丧失水分时，DNA 复制被抑制是最早的事件之一（Brunori，1967）。同样，在正常性的黑麦（*Secale cereale*）种子中，干种子只有在吸胀数小时后才发生第一轮的 S 期（DNA 期）复制（Sen and Osborne，1974）。值得注意的是，在第一轮 DNA 复制和细胞进入 G_2 和 M 期后，种子的脱水耐性丧失。正常性种子萌发过程中，细胞分裂的起始与脱水耐性的丧失一致（reviewed by Pammenter and Berjak，1999）。

2.3 抗氧化系统

正常性种子和具脱水耐性的营养组织中存在一系列抗氧化防御机制（Hendry，1993；McDonald，1999；Oliver and Bewley，1997）。Vertucci and Farrant（1995）提出，尽管产生自由基的上限含水量较高，但是，在相应于 −11 ~ −3 MPa（类型 3 水分）水势的含水量范围，不受调节的代谢事件引起第一波自由基的产生。在营养组织中，当编码酶促抗氧化剂的基因增量表达时，由氧化事件引起的细胞毒素产物的清除对于提高脱水胁迫耐性具有重要意义（Ingram and Bartels，1996）。在复苏植物 *Craterostigma plantagineum* 的脱水过程中，一种脂

氧合酶（lipoxygenase，它的活性导致脂质氢过氧化物的形成）的抑制剂在叶片中积累（Bianchi 等，1992）；在 *C. wilmsii* 和 *X. viscosa* 中，抗坏血酸过氧化物酶（ascorbate peroxidase）的活性在脱水过程中增加，超氧物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）和谷胱苷肽还原酶（glutathione reductase）的活性在重新水合时增加（Sherwin and Farrant，1998）。

Côme and Corbinrau（1996）综述了与顽拗性种子脱水有关的代谢诱导的伤害。顽拗性种子缓慢脱水时，由于不协调的代谢结果，自由基的产生可能是一种主要的伤害因子，构成一系列致死伤害（Smith and Berjak，1995；Côme and Corbinrau，1996）。顽拗性种子（或者它的胚轴）具有抗氧化机制（Hendry 等，1992；Finch-Savage 等，1994）；但在水分胁迫条件下，这些保护性机制可能被伤害（Smith and Berjak，1995）；它们对脱水伤害的保护作用，可能是无效的。在温带顽拗性物种英国栎种子胚轴的脱水过程中，随着抗氧化酶活性和 α-生育酚含量的降低自由基迅速积累（Hendry 等，1992；Finch-Savage 等，1993）。已经证明，随着英国栎，欧洲栗（*Castanea sativa*）和欧洲七叶树种子胚轴的脱水，稳定自由基积累；后两种植物是产生顽拗性种子的温带物种（Finch-Savage 等，1994）。在高度顽拗性的热带物种 *Shorea robusta* 中，超氧阴离子（superoxide anion，一种自由基）的产生与膜的伤害关系密切（Chaitanya and Naithani，1994）。而顽拗性的水生禾本科植物窄叶菰的种子，在所有的试验温度下氢过氧化物随着脱水而形成，在 37℃ 下形成的氢过氧化物比 25℃ 下多的多；四唑实验（tetrazolium testing）表明，在较高的温度下水分丧失严重地影响种子生活力（Ntuli 等，1997）。

可可种子（Li and Sun，1999）、黄皮（*Clausena lansium*，宋松泉和傅家瑞，1997）和荔枝（*Litchi chinensis*，Song and Fu，1999）的种子和胚轴在脱水过程中自由基清除酶的活性下降，脂质过氧化产物丙二醛的含量显著增加。

2.4　保护性物质

种子脱水伤害的保护性物质主要有 LEA 蛋白、糖、亲水脂分子和油素（oleosin）（Ingram and Bartels，1996；Pammenter and Berjak，1999；Phillips 等，2002）。表 1 总结了与种子脱水耐性有关的组分及其保护作用。关于 LEA 蛋白与种子脱水耐性的关系将在后面详细讨论。

蔗糖、寡糖或者半乳糖苷环多醇　非还原糖特别是棉籽糖系列（Blackman 等，1992）和半乳糖苷环多醇（Obendorf，1997）通常以两种主要的方式影响脱水耐性。第一种方式是"水分代替假说（Water replacement hypothesis）"。该假说认为，脱水时专一的糖代替与膜表面有关的水分，从而维持脂质双分子层中正确的脂质头部空间和防止从液晶相转变为凝胶相（reviewed by Crowe 等，1992）。已经提出，海藻糖（trehalose）是最有效的糖，它能以这种方式代替水分（Crowe 等，1992）。在被子植物的种子中不存在海藻糖，而蔗糖是最丰富的二糖；蔗糖在正常性种子的脱水和具脱水耐性的花粉中可能起类似于海藻糖的作用（Crowe 等，1992；Hoekstra 等，2001）。第二种方式是水相的玻璃化作用（vitrification of aqueous phase）（Leopold 等，1994；Obendorf，1997）。当水分丧失时，蔗糖和一些寡糖或者半乳糖苷环多醇形成高粘滞性的、无定型的超饱和溶液。由于它们的高粘滞性，玻璃化的存在实际上向细胞内施加了一种停滞作用，因而降低紊乱代谢的有害效应，防止大分子变性，以及可能阻止或者减少膜脂质双分子层从液晶相转变为凝胶相。

在成熟的正常性种子中非还原性寡糖的积累与单糖的减少相一致，以及存在玻璃化状态（Blackman 等，1992；Leopold 等，1994；Leprince and Walters-Vertucci，1995）。蔗糖也在一些脱水的复苏植物组织中积累（Ingram and Bartels，1996；Oliver and Bewley，1997）。Farrant and Sherwin（1998）已经证明，当一些复苏植物脱水时，单糖减少，寡糖积累。

亲水脂分子　Hoekstra 等（1997，2001）认为，亲水脂分子分配进入脂质双分子层能大大降低膜脂从液晶相转变为凝胶相的含水量，从而维持脱水耐性生物在干燥状态下膜的完整性。在脱水敏感性种子中，必需的内源亲水脂分子可能是缺乏的或者不起作用（Berjak and Pammenter，2001）。

油素　植物细胞中的脂质滴（lipid droplet）被一层称为油素的专一蛋白质包裹（Huang，1992）。油素含有一个与脂质边缘相互作用的中央疏水区域和一个与细胞基质相互作用的亲水脂分子的 N－末端区域和 C－末端区域。在水合状态下，油素保证脂质体独立完整地存在于细胞基质中。在脱水耐性的种子中，油素阻止脱水时脂质体的聚合（Leprince 等，1998）。

表 1　种子中脱水耐性的可能组分和它们的保护作用

Table 1　Possible components of desiccation tolerance in seeds and their protective actions

影响的位点和过程	保护性组分	保护性作用	可能的保护作用模式
膜	碳水化合物：蔗糖加棉子糖和/或者水苏糖。	防止由于双分子层中磷脂的侧相分离引起的选择性变化，阻止从液晶相向凝胶相的转变。	蔗糖的羟基代替膜磷脂亲水（极性）基团上的水分；寡糖（棉子糖和/或者水苏糖）抑制干燥过程中蔗糖的结晶，防止蔗糖的保护性潜势丧失；增加对自由基介导的脱水伤害的清除活性。
	脂溶性抗氧化剂（例如生育酚）。	如上所述，防止膜磷脂的去酯化作用和游离脂肪酸的积累。	
结构/代谢	贮藏物：碳水化合物，脂，蛋白质。	阻止细胞组分被大量地机械伤害。防止生物分子的结构和功能完整性必需的紧密结合的水分丧失。	液泡和贮藏体中贮藏物的临界水平为整个细胞提供机械强度。细胞的水分结合能力随着吸附位点的数量增加而提高。
	亲水的抗变性蛋白（例如，LEAs，其他脱水诱导的多肽）。	如上所述	细胞的水分结合能力随着吸附位点的数量和强度的增加而提高；在整个干燥过程中维持保护性分子的自然构型；与离子结合以及抵抗干燥过程中细胞质离子强度增加的伤害影响。
	修复蛋白，蛋白酶，泛素和伸展蛋白，热休克蛋白/分子伴侣，LEAs。	吸胀后，结构和代谢完整性的迅速重建	膜和其他细胞组分的有效修复将恢复其正常的功能；帮助蛋白质恢复其自然构型；伤害和变形蛋白质的降解。

（引自 Kermode and Finch-Savage，2002）

2.5　修复机制

在重新水合过程中修复机制的存在和运转可能是复苏植物提高脱水耐性的主要特征（Oliver and Bewley，1997）。土生墙藓（*Tortula ruralis*）的脱水耐性与重新水合过程中水合蛋白（hydrin）和后水合蛋白（rehydrin）的合成密切相关（Phillips 等，2002）。尽管有关种子脱

水伤害的修复研究极少，但正常性种子可能具有类似于复苏植物的特性（Pammenter and Berjak，1999）。在受到不适当处理的种子中，萌发滞后期增加和萌发速率下降（即使最后的萌发率仍然较高）的事件表明，修复过程可能在滞后期起作用。

Mudgett 等（1997）证明，大麦（*Hordeum vulgare*）种子蛋白质中的异常 L – 异天冬氨酰残基被 L – 异天冬氨酰甲基转移酶（L-isoaspertyl methyltransferase）转变成为正常的残基，以及此酶存在于许多其他类型的种子中；在自然老化的大麦种子中，当生活力下降时 L – 异天冬氨酰甲基转移酶的活性降低，‘未被修复的’L – 异天冬氨酰残基的水平增加。同样，Kester 等（1997）证明，在人工老化的番茄（*Lycopersicon esculentum*）种子中，当萌发速率和生活力下降时 L – 异天冬氨酰甲基转移酶的活性降低。Osborne 及其小组的研究也表明，修复是一种有助于脱水的正常性种子存活的必需组分（Elder 等，1987）。在黑麦种子生活力丧失过程中，内 – 和外 – 核酸酶具有累加作用，产生的伤害以及其他的 DNA 损伤直到种子被重新水合时才被修复（Boubriak 等，1997）。

在渗透引动（osmopriming）（一种专门为低生活力种子设计的预处理）过程中，当种子被停止和保持在水分吸收的第 Ⅱ 阶段的后期，也发生修复作用（Bray，1995）。在低活力的韭葱（*Allium porrum*）种子中，rRNA 的完整性丧失；在渗透引动过程中，损伤的 rRNA 发生替换，蛋白质和 DNA 的伤害被修复（Bray，1995）。

当重新水合时，细胞内修复的另一个方面是抗氧化系统的有效运转；不能修复脱水过程中所遭受的伤害可能是顽拗性种子的重要特性之一，在这方面定性和定量的数据都是缺乏的（Côme and Corbineau，1996）；值得进行研究。

3　种子脱水耐性与 LEA 蛋白

3.1　LEA 蛋白作为种子发育程序的一部分

被子植物的种子发育起源于单细胞合子。单细胞合子经历细胞分裂和分化，形成由胚轴和子叶构成的幼胚，同时有三倍体的胚乳形成（Kermode，1997）。

在种胚成熟后期，蛋白质和 mRNA 的合成模式发生变化。棉花（*Gossypium hirsutum*）胚中的 LEA 蛋白可分为两类：第一类 LEA 蛋白含 6 个成员，在组织分化完成后不久开始出现，在发育中期（25 ~ 35 DAP [days after pollination，授粉后天数]）增加，且与 ABA 含量的增加一致，大约在种子开始脱水前 3 d 达到最大值；第二类 LEA 蛋白含 12 个成员，LEA 转录物和蛋白在成熟后期产生，在种子脱水前或者脱水过程中达到峰值，其含量较高，占非贮藏蛋白的 30%，在细胞内某些特定区域可能更高。LEA 蛋白的 mRNA 转录物在整个脱水过程和成熟种子中存留，在种子吸胀时迅速降解（Bewley and Black，1994）。

目前已经知道在发育的棉花胚中最早发现的 LEA 蛋白或者 lea 转录物存在于多种植物，如豌豆、大豆、油菜、胡萝卜（*Daucus carota*）、蓖麻籽、番茄、向日葵（*Helianthus annuus*）、拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）和一些禾谷类植物的胚中（Bewley and Black，1994；Leprince 等，1993）。小麦（*Triticum aestivum*）和玉米（*Zea mays*）的 Em 蛋白（early-methionine-labelled-polypeptide）也属于 LEA 蛋白（Bewley and Black，1994）。事实上，LEA 蛋白不仅存在于种子中，也存在于幼苗和成年植株中；它们可以在转录水平上为 ABA、高渗透浓度和水分胁迫诱导（Kermode，1997）。已经证明 *lea* 基因与许多在干旱胁迫植株的营养

组织中表达的基因有相似之处（Ingram and Bartels，1996）。脱水处理常常能够诱导种子中 *lea* 基因的提前表达，ABA 也能诱导种子和营养组织中 *lea* 基因的表达（Kermode，1997）。

3.2 LEA 蛋白的共同特征和可能的作用

根据棉花胚中蛋白的氨基酸顺序同源性，LEA 蛋白可分为 6 组，即：LEA D19（第 1 组），LEA D11（第 2 组，也称为脱水素［dehydrin］），LEA D7（第 3 组），LEA D113（第 4 组），LEA D29（第 5 组）和 LEA D95（第 6 组）（Bray，1993；Ingram and Bartels，1996；Cuming，1999；Phillips 等，2002；表 2）。

表 2 LEA 蛋白的预测功能和作用方式

Table 2 Predicted functions and actions of LEA proteins

LEA 蛋白的类型	推测的功能	可能的作用方式	参考文献
LEA D19（第 1 组）	具有较高的水合能力，能维持细胞的最小水分需要。	具有高比例的带电荷的氨基酸和甘氨酸；在生理条件下，不规则的螺旋大于 70%。	Bray，1993；Ingram and Bartels，1996；Kermode，1997
LEA D11（第 2 组）	起分子伴侣和亲和性溶质的作用，稳定和保护蛋白质的结构及功能。	脱水素 K－片段的亲水脂分子螺旋的疏水面可能与脂类或者部分变性蛋白的暴露的疏水区域相互作用；高度极性的脱水素 Φ－片段通过氢键与大分子的极性头部相互作用，覆盖暴露的大分子疏水表面，防止其凝结。	Bray，1993；Close，1997；Ingram and Bartels，1996；Phillips *et al*，2002
LEA D7（第 3 组）	螯合细胞脱水过程中浓缩的离子。	11 个氨基酸的一致顺序 TAQAAKEKAGE 形成一种亲水脂分子 α－螺旋，重复 13 次。亲水脂分子 α－螺旋的疏水面形成同型二聚体，外面的电荷面螯合离子如 Na^{+} 和 PO_4^{3-}。	Bray，1993；Dure，1993；Phillips *et al*，2002
LEA D113（第 4 组）	代替水保护膜的结构。	N－末端的氨基酸顺序形成一种 α－螺旋；这种螺旋可能允许它们的结构适应其他结构的形状，并提供一种粘着层（cohesive layer）。	Bray，1993；Ingram and Bartels，1996；Cuming，1999
LEA D29（第 5 组）	同 LEA D7	同 LEA D7，但缺乏高度的残基专一性。	Bray，1993；Ingram and Bartels，1996

从亚细胞水平来看，LEA 蛋白主要定位在细胞质中（Goday 等，1994）。经 0.1 mmol/L ABA 处理的成熟玉米籽粒中，大部分的种子脱水素定位在靠近茎尖和根尖细胞的细胞质中，但其他组织包括糊粉层、盾片的薄壁组织、盾片表皮、维管束源和胚叶细胞的细胞质和核中也存在脱水素蛋白（Asghar 等，1994）。在玉米胚的盾片薄壁组织细胞中，常染色质（euchro-matin）和细胞骨架元件（cytoskeletal element）也可能是脱水素定位的场所（Close，1996）。

LEA 蛋白的共同结构特征是由偏性氨基酸组分（biased amino acid composition）形成的高度亲水性的多肽（Kermode，1997）。大多数 LEA 蛋白缺乏半胱氨酸和酪氨酸残基，但富含赖氨酸和甘氨酸；据推测，棉花 D19 蛋白的氨基酸顺序含有 13% 的甘氨酸和 11% 的谷氨酸；LEA 蛋白的高温溶解性和低的水疗法比数（hydropathy score）都说明了它们的亲水性（hydrophilicity）（Kermode，1997）。

LEA 蛋白具有高度的亲水性，因此在细胞结构中的分布可能不具有专一性；它们具偏性氨基酸的组成，且在细胞中的浓度较高，很大程度上可能不具有酶活性（Ingram and Bar-

tels，1996）。关于每组 LEA 蛋白的确切功能还不清楚，目前只是根据它们的氨基酸顺序和预测的蛋白质结构来进行推断；其预测功能及其作用方式如表 2。

3.3　ABA 与 LEA 蛋白

在发育种子的 *lea* 基因表达过程中，ABA 起主要调节作用的证据是什么？通常，在发育中期的胚中能检测到编码 LEA 蛋白的 mRNA，在胚的脱水初期或者成熟干燥过程中发生高水平的表达（Gomez 等，1988；Close 等，1989）。在成熟干燥种子中，这些 mRNA 被保存，但在吸胀过程中被迅速降解；尽管在某些情况下，一些蛋白质在吸胀作用后仍然残存（Han 等，1996）。在离体培养的未成熟胚中，外源 ABA 能诱导 LEA 蛋白及其 mRNA 的提早出现。因此，发育中期高水平的 ABA 可能为胚的脱水做准备，或者为在随后的重新水合过程中可能的细胞破坏做准备（Kermode and Finch-Savage，2002）。有趣的是，通过遗传操作或者生物合成抑制剂处理获得的一种 ABA 缺乏的玉米胎萌突变体（viviparous mutant，*vp-5*），在其种子发育早期诱导赤霉素（gibberellin，GA）缺乏时，谷粒的胎萌被抑制，种子获得脱水耐性和贮藏寿命（White 等，2000）。

已经分离了两种 ABA 缺乏的向日葵突变体，*nd-1* 和 *w-1*。*nd-1* 为一种白化的、非休眠的致死突变体，表现出非常低的 ABA 含量，在对胁迫反应时没有 ABA 的积累；*w-1* 是一种萎蔫突变体，在胚的发育和干旱胁迫过程中具有少量的 ABA 积累（Giordani 等，1999）。与野生型胚比较，*w-1* 突变体在胚发育的早期阶段表现出脱水素转录物减少，表明 ABA 影响脱水素的积累；然而，在后期胚胎发生过程中脱水素转录物的多少似乎不依赖于 ABA 的含量。因此，在种子和胁迫的营养组织中可能有两条控制脱水素转录物积累的调节途径，一条是依赖 ABA 的，另一条是不依赖 ABA 的；这两条途径可能具有累加效应（Giordani 等，1999）。

在 ABA 缺乏（*aba*）和 ABA 不敏感（*abi-3*）的拟南芥突变体中，种子生活力不受影响；而表现这两种特性的双突变体种子在母株上不经历脱水，不耐人工脱水，不产生一些后期丰富蛋白（Koornneef 等，1989；Meurs 等，1992）。这些双突变体的种子仅仅积累少量的贮藏蛋白，缺乏一些小分子量的多肽。在发育过程中（14 ~ 20 DAP），一些成熟专一的蛋白被降解，而具有萌发特征的蛋白被诱导。当用 ABA 类似物（LAB 173711）处理植株或者用 ABA 和蔗糖离体培养未成熟（11 ~ 15 DAP）的种子时，种子变为耐脱水。蔗糖可能保护脱水敏感性的结构免于伤害，ABA 抑制过早地萌发；这些事件对于种子发育程序的完成和脱水耐性的获得是需要的（Meurs 等，1992）。

第 3 组大麦 LEA 蛋白称为 HAV1，在种子发育后期的糊粉层和胚中的专一表达与种子脱水耐性的获得有关。ABA 和一些胁迫条件包括脱水也诱导 *HVA1* 在幼苗中表达。Xu 等（1996）利用组成型启动子获得了表达大麦 *HAV1* 基因的转基因水稻（*Oryza sativa*）植株，结果导致了 *HAV1* 蛋白在转基因水稻植株的叶片和根中组成型积累。第二代转基因的水稻植株表现出对水分缺乏和盐的耐性。

4　结束语

脱水耐性是正常性种子最基本的特征之一。正常性种子成熟时胚的脱水耐性增加，种子吸胀萌发时胚又变为不耐脱水。顽拗性种子在整个发育过程中不耐脱水，对水分丧失高

度敏感。利用这些特性建立和完善脱水耐性的模式研究系统，并对其进行详细分析，可以进一步揭示脱水耐性的分子机理。

目前认为，双组分的组氨酸激酶（two-component hiskinase）在植物的水分胁迫反应中起渗透感受器（osmosensor）的作用（Chang and Stewart，1998）。种子在脱水过程中是否也存在一种类似的渗透感受器来感受母体信号（或者环境信号）还不清楚。

脱水耐性是一种数量性状（quantitative feature）（Berjak and Pammenter，1994）。顽拗性种子（特别是热带湿地植物产生的顽拗性种子）脱水敏感的部分原因是由于不能积累足够的脱水素，或者（在向萌发/生长转变后处于胁迫条件下）缺乏特有的 LEA 和脱水素蛋白（Kermode，1997）。因此，研制脱水素抗体和脱水素基因的 cDNA 探针，比较研究正常性种子和顽拗性种子发育和萌发过程中、幼胚和成熟胚脱水过程中脱水素基因的表达，以及 ABA 和 GA 对离体培养胚脱水耐性和脱水素基因表达的调节就具有重要的理论意义。

鉴定对脱水胁迫最敏感的代谢步骤；利用反义 RNA 生产突变体；将与脱水耐性有关的基因转入植物，评价编码蛋白的功能并探明其与脱水耐性的关系是继续阐明一些脱水耐性机制的有效技术。

〔参　考　文　献〕

Asghar R，Fenton RD，DeMason DA，*et al*，1994. Nuclear and cytoplasmic localization of maize embryo and aleurone dehydrin [J]. *Protoplasma*，**177**：87—94

Berjak P，Pammenter NW，1994. Recalcitrance is not an all-or-nothing situation [J]. *Seed Sci Res*，**4**：263—264

Berjak P，Pammenter NW，1997. Progress in the understanding and manipulation of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds [A]. In Ellis RH，Black M，Murdoch AJ，*et al* (eds). Basic and Applied Aspects of Seed Biology [M]. Dordrecht：Kluwer Academic Publishers，689—703

Berjak P，Pammenter NW，2001. Seed recalcitrance-current perspectives [J]. *South African J Bot*，**67**：79—89

Bewley JD，Black M，1994. Seeds，Physiology of Development and Germination [M]. New York：Plenum Press，117—145

Bianchi G，Gamba A，Murelli C，*et al*，1992. Low molecular weight solutes in desiccated and ABA-treated calli of *Craterostigma plantagineum* [J]. *Phytochem*，**31**：1917—1922

Blackman SA，Obendorf RL，Leopold AC，1992. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds [J]. *Plant Physiol*，**100**：225—230

Boubriak I，Kargiolaki H，Lyne L，*et al*，1997. The requirement for DNA repair in desiccation tolerance of germinating embryos [J]. *Seed Sci Res*，**7**：97—105

Bray CM，1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds [A]. In Kigel J，Galili G (eds). Seed development and germination [M]. New York：Marcel Dekker Inc，767—789

Bray EA，1993. Molecular response to water deficit [J]. *Plant Physiol*，**103**：1035—1040

Brunori A，1967. A relationship between DNA synthesis and water content during ripening of *Vicia faba* seeds [J]. *Caryologia*，**20**：333—338

Chaitanya KSK，Naithani SC，1994. Role of superoxide，lipid peroxidation and superoxide dismutase in membrane perturbation during loss of viability in seeds of *Shorea robusta* Gaertn [J]. *New Phytologist*，**126**：623—627

Chang C，Steward RC，1998. The two-component system，regulation of diverse signaling pathways in prokaryotes and eukaryotes [J]. *Plant Physiol*，**117**：723—731

Chien CT，Lin TP，1997. Effect of harvest data on the storability of desiccation-sensitive seeds of *Machilus kusanoi* Hay [J]. *Seed Sci & Technol*，**25**：361—371

Close TJ，Kortt AA，Chandler PM，1989. A cDNA-based comparison of dehydration induced proteins (dehydrins) in barley and corn [J]. *Plant Mol Bio*，**13**：95—108

Close TJ，1996. Dehydrins：Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration protein [J]. *Physiol Plant*，**97**：795—803

Close TJ，1997. Dehydrins：A commonalty in the response of plants to dehydration and low temperature [J]. *Physiol Plant*，**100**：291—296

Côme D，Corbineau F，1996. Metabolic damage related to desiccation sensitivity [A]. In Ouédraoga AS，Poulsen K，Stubsgaard F (eds). Intermediate/Recalcitrant Tropical Forest Tree Seeds [M]. Rome：IPGRI，83—97

Crowe JH，Hoekstra FA，Crowe LM，1992. Anhydrobiosis [J]. *Ann Rev Physiol*，**54**：579—599

Cuming A，1999. Lea proteins [A]. In Shewry PR，Casey R (eds). Seed Protein [M]. The Netherlands：Kluwer Academic Publishers，753—780

Dure L III，1993. A repeating 11-mer amino acid motif and plant desiccation [J]. *Plant J*，**3**：363—369

Elder RH，Dell ' Aqula A，Mezzina M，*et al*，1987. DNA ligase in repair and replication in the embryos of ryes，*Secale cereale* [J]. *Mutation Research*，**181**：61—71

Ellis RH，Hong TD，Roberts EH，1990a. An intermediate category of seed storage behaviour？I. Coffee [J]. *J Exp Bot*，**41**：1167—1174

Ellis RH，Hong TD，Roberts EH，*et al*，1990b. Seed storage behavior in *Elaeis guineensis* [J]. *Seed Sci Res*，**1**：99—104

Ellis RH，Hong TD，Roberts EH，1991. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds [J]. *Seed Sci Res*，**1**：69—72

Farrant JM，Pammenter NW，Berjak P，1988. Recalcitrance-a current assessment [J]. *Seed Sci & Technol*，**16**：155—166

Farrant JM，Pammenter NW，Berjak P，1993. Seed development in relation to desiccation tolerance：A comparison between desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* and desiccation tolerant types [J]. *Seed Sci Res*，**3**：1—13

Farrant JM，Pammenter NW，Berjak P，*et al*，1997. Subcellular organization and metabolic activity during the development of seeds that attain different levels of desiccation tolerance [J]. *Seed Sci Res*，**7**：135—144

Farrant JM，Sherwin HW，1998. Mechanisms of desiccation tolerance in seed and resurrection plants [A]. In Taylor AG，Roos E，Huang XL (eds). Progress in Seed Research [M]. Ithaca：Cornell University Press，109—120

Finch-Savage WE，1992. Seed development in the recalcitrant species *Quercus robur* L.：Development of germinability and desiccation tolerance [J]. *Seed Sci Res*，**2**：17—22

Finch-Savage WE，Grange RI，Hendry GAF，*et al*，1993. Embryo water status and loss of viability during desiccation in the recalcitrant seed species *Quercus robur* L [A]. In Côme D，Corbineau F (eds). Fourth international workshop on seeds：Basic and applied aspects of seed biology [M]. Paris：ASFIS，723—730

Finch-Savage WE，Hendry GAE，Atherton NM，1994. Free radical activity and loss of viability during of desiccation-sensitive tree seeds [J]. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh，**102B**：257—260

Galau GA，Jakobsen KS，Hughes DW，1991. The controls of late dicot embryogenesis and early germination [J]. *Physiol Plant*，**81**：280—288

Giordani T，Natali L，D-Ercole A，*et al*，1999. Expression of a dehydrin gene during embryo development and drought stress in ABA-deficient mutants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) [J]. *Plant Mol Bio*，**39**：739—748

Goday A，Jensen AB，Culianez-Macia FA，*et al*，1994. The maize abscisic acid-responsive protein Rab 17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals [J]. *Plant Cell*，**6**：351—360

Gomez J，Sanchez-Martinez D，Stiefel V，*et al*，1988. A gene induced by the plant hormone abscisic acid in response to water stress encodes a glycine-rich protein [J]. *Nature*，**334**：262—264

Han B，Hughes DW，Galau GA，*et al*，1996. Changes in late-embryogenesis-abundant (LEA) messenger RNA and dehydrins during maturation and premature drying of *Ricinus communis* L. seeds [J]. *Planta*，**201**：27—35

Hendry GAF，1993. Oxygen，free radical processes and seed longevity [J]. *Seed Sci Res*，**3**：141—153

Hendry GAF，Finch-Savage WE，Thorpe PC，*et al*，1992. Free radical processes and loss of viability during desiccation in the recalci-

trant species *Quercus robur* L [J]. *New Phytologist*, **122**: 273—279

Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J, 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance [J]. *Trends in Plant Sci*, **6**: 431—438

Hoekstra FA, Wolkers WF, Buitink J, *et al*, 1997. Membrane stabilization in the dry state [J]. *Comparative Biochem and Physiol*, **117A**: 335—341

Hong TD, Ellis RH, 1996. A protocol to determine seed storage behaviour [M]. Rome: IPGRI

Huang AHC, 1992. Oil bodies and oleosins in seeds [J]. *Ann Rev Plant Physiol Plan Mol Bio*, **43**: 177—200

Ingram J, Bartels D, 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, **47**: 377—403

Kermode AR, 1995. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment [A]. In Kigel J, Galili G (eds). Seed Development and Germination [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 273—332

Kermode AR, 1997. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds [J]. *Seed Sci Res*, **7**: 75—95

Kermode AR, Bewley JD, 1985. The role of maturation drying in the transsition from seed development to germination. I. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds [J]. *J Exp Bot*, **36**: 1906—1915

Kermode AR, Finch-Savage BE, 2002. Desiccation Sensitivity in orthodox and recalcitrant seed in relation to development [A]. In Black M, Pritchard HW (eds). Desiccation and Survival in Plant: Drying Without Drying [M]. Oxon: CABI Publishing, 149—184

Kester ST, Geneve RL, Houtz RL, 1997. Priming and accelerated aging affect L-isoaspartyl methyltransferase activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed [J]. *J Exp Bot*, **48**: 943—949

Koornneef M, Hanhart CJ, hilhorst HWM, *et al*, 1989. *In vivo* inhibition of seed development and reserve protein accumulation in recombinants of abscisic acid biosynthesis and responsiveness mutants in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, **90**: 463—469

Kovach DA, Bradford KJ, 1992. Imbibitional damage and desiccation tolerance of wild rice (*Zizania palustris*) seeds [J]. *J Exp Bot*, **43**: 747—757

Leopold AC, Sun WQ, Bernal-Lugo L, 1994. The glassy state in seeds: analysis and function [J]. *Seed Sci Res*, **4**: 267—274

Leprince O, Hendry GAF, McKersie BD, 1993. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds [J]. *Seed Sci Res*, **3**: 231—246

Leprince O, van Aelst A, Pritchard HW, *et al*, 1998. Oleosins prevent oil-body coalescence during seed imbibition as suggested by a low-temperature scanning electron microscope study of desiccation-tolerant and -sensitive oilseeds [J]. *Planta*, **204**: 109—119

Leprince O, Walters-Vertucci C, 1995. A calorimetric study of the glass transitions behaviors in axes of bean seeds with relevance to storage stability [J]. *Plant Physiol*, **109**: 1471—1481

Li CR, Sun WQ, 1999. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds [J]. *Seed Sci Res*, **9**: 209—217

Lin TP, Chen MH, 1995. Biochemical characteristics associated with the development of the desiccation-sensitive seeds of *Machilus thunbergii* Sieb. & Zucc [J]. *Annals Bot*, **76**: 381—387

McDonald MB, 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment [J]. *Seed Sci & Technol*, **27**: 177—237

Meurs C, Basra AS, Karssen CM, *et al*, 1992. Role of abscisic acid in the induction of desiccation tolerance in developing seeds of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, **98**: 1484—1493

Motete N, Pammenter NW, Berjak P, *et al*, 1997. Responses of the recalcitrant seeds of *Avicennia marina* to hydrated storage: events occurring at the root primordial [J]. *Seed Sci Res*, **7**: 169—178

Mudgett MB, Lowensen JD, Clarke S, 1997. Protein repair L-isoaspartyl methyltransferase in plants. Phylogenetic distribution and the accumulation of substrate proteins in aged barley seeds [J]. *Plant Physiol*, **115**: 1481—1489

Ntuli TM, Berjak P, Pammenter NW, *et al*, 1997. Effects of temperature on the desiccation response of seeds of *Zizania palustris* [J]. *Seed Sci Res*, **7**: 145—160

Obendorf RL, 1997. Oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seed desiccation tolerance [J]. *Seed Sci Res*, **7**: 63—74

Oliver MJ, Bewley JD, 1997. Desiccation-tolerance of plant tissues: A mechanistic overview [J]. *Hort Rev*, **18**: 171—213

Pammenter NW，Berjak P，1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms [J]. *Seed Sci Res*，**9**：13—37

Phillips JR，Oliver MJ，Bartels D，2002. Molecular genetics of desiccation and tolerant systems [A]. In Black M，Pritchard HW (eds). Desiccation and Survival in plant：drying without drying [M]. Oxon：CABI Publishing，319—341

Roberts EH，1973. Predicting the storage life of seeds [J]. *Seed Sci & Technol*，**1**：499—514

Rogerson NE，Matthews S，1977. Respiratory and carbohydrate changes in developing pea (*Pisum sativum*) seeds in relation to their ability to withstand desiccation [J]. *J Exp Bot*，**28**：304—313

Sen S，Osborne DJ，1974. Germination of rye embryos following hydration-dehydration treatments：enhancement of protein and RNA synthesis and earlier induction of DNA replication [J]. *J Exp Bot*，**25**：1010—1019

Senaratna T，McKersie BD，1986. Loss of desiccation tolerance during seed germination：a free radical mechanism of injury [A]. In Leopold AC (ed). Membranes，Metabolism and Dry Organisms [M]. Ithaca，London，Comstock，85—101

Sherwin HW，Farrant JM，1996. Differences in rehydration of three desiccation-tolerant angiosperm species [J]. *Annals of Bot*，**78**：703—710

Sherwin HW，Farrant JM，1998. Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscose* [J]. *Plant Growth Reg*，**24**：203—210

Smith MT，Berjak P，1995. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerance and desiccation-sensitive seeds [A]. In Kigel J，Galili G (eds). Seed Development and Germination [M]. New York：Marcel Dekker Inc，701—746

Song SQ（宋松泉），Fu JR（傅家瑞），1997. Desiccation-sensitivity and lipid peroxidation in chinese wampee (*Clausena lansium* [Lour.] Skeels) seeds [J]. *Acta Phytophy Sin*（植物生理学报），**23**：163—168

Song SQ，Fu JR，1999. Desiccation sensitivity and peroxidation of membrane lipids in lychee seeds [J]. *Trop Sci*，**39**：102—106

Tompsett PB，Pritchard HW，1993. Water status changes during development in relation to the germination and desiccation tolerance of *Aesculus hippocastanum* L. seeds [J]. *Annals of Bot*，**71**：107—116

Tuba Z，Lichtenthaler HK，Csintalan Z，*et al*，1996. Loss of chlorophyllous，cessation of photosynthetic CO_2 assimalation and respiration in the poikilochlorophyllous plant *Xerophyta scabrida* during desiccation [J]. *Physiol Plant*，**96**：383—388

Vertucci CW，1989. The effects of low water contents on physiological activities of seeds [J]. *Physiol Plant*，**77**：172—176

Vertucci CW，1990. Calorimetric studies on the state of water in seeds tissues [J]. *Biophysical J*，**58**：1463—1471

Vertucci CW，1993. Towards a unified hypothesis of seed aging [A]. In Côme D，Corbineau F (eds). Fourth Nternational Workshop on Seeds：Basic and Applied Aspects of Seed Biology [M]. Paris：ASFIS，739—746

Vertucci CW，Farrant JM，1995. Acquisition and loss of desiccation tolerance [A]. In Kigel J，Galili G (eds). Seed Development and Germination [M]. New York：Marcel Dekker Inc，237—271

Vertucci CW，Roos EE，1993. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture contents [J]. *Seed Sci Res*，**3**：201—213

Walters C，Farrant JM，Pammenter NP，*et al*，2002. Desiccation stress and damage [A]. In Black M，Pritchard HW (eds). Desiccation and Survival in Plant：Drying Without Drying [M]. Oxon：CABI Publishing，263—291

White CN，Proebsting WM，Hedden P，*et al*，2000. Gibberellins and seed development in Maize. I. Evidence that gibberellin / abscisic acid balance governs germination versus maturation pathways [J]. *Plant Physiol*，**122**：1081—1088

Xu DP，Duan XL，Wang BY，*et al*，1996. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene，HAV1，from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice [J]. *Plant Physiol*，**110**：249—257